

SÉRIE A n° 234
N° D'ORDRE :
258

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ (SCIENCES)

PAR

I.-D. GEORGESCU

Assistant de l'Institut de Physiologie de Cluj (*Roumanie*)

1^{re} THÈSE — SUR LE POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION DES ACIDES
HEXURONIQUES.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

7 MA 1932

Soutenues le

devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN . . . Président.

JEAN PERRIN. . .

M^{me} RAMART-LUCAS . . .

} Examinateurs.

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1932



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547521_0046

SÉRIE A n° 234

N° D'ORDRE :

258

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ (SCIENCES)

PAR

I.-D. GEORGESCU

Assistant de l'Institut de Physiologie de Cluj (*Roumanie*)

1^{re} THÈSE — SUR LE POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION DES ACIDES
HEXURONIQUES.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN . . . *Président.*

JEAN PERRIN. . .

M^{me} RAMART-LUCAS . .

} *Examineurs.*

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1932

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyen honoraire... M. MOLLIARD.

Profes honoraïres. H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
Émile PICARD.
Rémy PERRIER.

E. GOURSAT Analyse supérieure et algèbre supérieure.
N..... Mécanique physique et expérimentale.
P. JANET Électrotechnique générale.
F. WALLERANT ... Minéralogie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
M. CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
Gabriel BERTRAND . Chimie biologique.
Jean PERRIN Chimie physique.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
G. URBAIN Chimie générale.
L. MARCHIS Aviation.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformations.

Professeurs A. COTTON Physique générale
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
P. PORTIER Physiologie comparée.
Charles PÉREZ Zoologie.
É. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD .. Botanique.
Léon BERTRAND ... Géologie structurale et géologie appliquée
E. RABAUD Biologie expérimentale.
G. JULIA Calcul différentiel et calcul intégral.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
V. AUGER Chimie appliquée.
P. WINTREBERT ... Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSQ Biologie maritime.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
N..... Étude des combustibles.
L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie minérale.
Léon BRILLOUIN .. Théories physiques.
E. ESCLANGON Astronomie.
H. BÉNARD Mécanique expérimentale des fluides.
MAUGUIN Minéralogie.
L. BLARINGHEM ... Botanique.
A. GUILLIERMOND . Botanique (P. C. N.).
A. DENJOY Mathématiques générales.
A. DUFOUR Physique (P. C. N.).

E. PÉCHARD	Chimie (Enseig ^t P. C. N.)	M. FRÉCHET	Calcul des Probabilités et Physiques mathématiques.
A. GUILLET.....	Physique.	M ^{me} RAMART-LUCAS	Chimie organique.
M. GUICHARD	Chimie minérale.	BÉGHIN	Mécanique théorique des fluides.
A. MICHEL-LÉVY ..	Pétrographie.	FOCH	Mécanique expérimentale des fluides.
A. DEREIMS.	Géologie.	PAUTHENIER	Physique (P. C. N.).
H. MOUTON	Chimie physique.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
L. DUNOYER	Optique appliquée.	De BROGLIE	Théories physiques.
M. JAVILLIER	Chimie biologique.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
ROBERT-LÉVY	Zoologie.	FREUNDLER	Chimie (P. C. N.).
A. DEBIERNE.....	Radioactivité.	PRENANT	Zoologie.
E. DARMOIS	Physique.	P. JOB	Chimie générale.
G. BRUHAT.....	Physique.	CHRÉTIEN	Optique appliquée.
F. PICARD	Zoologie (Évolution des êtres organisés).		
L. JOLEAUD	Paléontologie.		

Secrétaire..... A. PACAUD



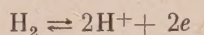
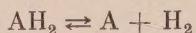
SUR LE POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION DES ACIDES HEXURONIQUES

INTRODUCTION

Les synthèses effectuées par les organismes vivants sont en général des phénomènes de réduction et correspondent à une élévation du potentiel chimique. Ces réactions constituent une sorte de reflux dans le courant qui entraîne les corps vers leur stabilité thermodynamique. De telles réactions ne peuvent avoir lieu que s'il se produit simultanément d'autres réactions correspondant à un abaissement au moins égal du potentiel chimique. On trouve cet apport d'énergie utilisable dans les processus d'oxydation. Il s'ensuit que l'élaboration de la matière vivante s'effectue par réactions couplées d'oxydations et de réductions, les premières permettant aux secondes de s'effectuer.

Le mécanisme de cette compensation est un des problèmes les plus importants de la biochimie. On doit à WURMSER (1923) d'avoir posé ce problème dans sa généralité et d'avoir donné une théorie ouvrant une voie nouvelle à l'expérimentation. En cherchant à comprendre comment l'énergie libérée par une réaction peut permettre à une autre réaction de s'effectuer, on voit que l'on ne doit pas considérer indépendamment ces deux transformations. Ceci peut être légitime quand il s'agit de réactions s'entraînant mutuellement mais dont chacune est thermodynamiquement possible, autrement dit, quand le couplage a un effet purement catalytique. Il n'en est pas de même quand une réaction compense une élévation du potentiel chimique. Quand on constate, d'une part, une combustion de glucose, d'autre part, la réduction d'un mélange d'ammoniaque avec une chaîne ternaire aboutissant à la synthèse d'un acide aminé, on doit considérer la réaction globale. Le glucose s'oxyde en réalité aux dépens de l'oxygène fourni par la chaîne ternaire qui subit la réduction, et non pas aux dépens d'oxygène libre ; plus vraisemblablement, suivant la théorie de WIELAND, l'hydrogène du glucose se fixe sur le système acide pyruvique + ammoniaque. Nous avons affaire à une véritable oxydo-réduction. On peut encore dire, si l'on veut, que les synthèses sont compensées par des combustions, suivant la physiologie classique, mais ce ne sont pas des combustions respiratoires aux dépens de l'oxygène du milieu extérieur. Tout au contraire, ces réactions s'opposent à la combustion totale et il convient de rechercher le mécanisme qui assure leur permanence dans les cellules. WURMSER (1925) admet que ce ne sont pas seulement des conditions de catalyse particulières aux

cellules qui sont responsables de ce mécanisme, mais que le potentiel d'oxydo-réduction des cellules qui présente une grande stabilité règle certaines de ces synthèses comme, par exemple, la formation d'un aminoacide à partir d'ammoniaque et de l'acide cétonique correspondant. Cette théorie implique l'existence dans les milieux cellulaires de systèmes en équilibre d'oxydo-réduction, c'est-à-dire constitués par des substances dont la forme réduite AH_2 est en équilibre avec son produit d'oxydation A et l'hydrogène, cet hydrogène étant lui-même en équilibre avec ses ions. On aurait :



où e représente un électron.

Ce serait l'hydrogène ou les électrons ainsi cédés par le système réversible qui interviendraient dans la synthèse et l'on conçoit que l'état de réduction de ce système pourrait régler le sens des réactions (WURMSER, 1932).

Il fallait donc rechercher, et, s'il s'en trouvait, étudier ces systèmes en équilibre avec l'hydrogène et ses ions.

Les premiers corps organiques susceptibles d'intervenir dans le métabolisme et présentant ce caractère qui aient été trouvés sont les dérivés formés au cours de l'évolution à l'abri de l'oxygène des solutions de glucides réducteurs. L'étude de ces solutions, d'abord entreprise par AUBEL, GENEVOIS et WURMSER (1917) et poursuivie par WURMSER et GÉLOSO (1928, 1929, 1931) a conduit à mettre en évidence dans ces solutions un système oxydo-réducteur tout à fait typique.

Dans le présent travail, j'ai poursuivi une étude analogue sur des corps définis dérivés des glucides, les acides glycuronique et galacturonique, et sur l'acide hexuronique extrait par SZENT-GYÖRGYI (1928) de certains tissus animaux ou végétaux et dont cet auteur a montré la possibilité de subir une oxydation réversible.

Une grande facilité est donnée aux chercheurs, dans ce domaine, par l'existence d'une étude complète de la question, jusqu'en 1930, faite par R. WURMSER. Nous nous félicitons d'avoir eu la possibilité de travailler dans son laboratoire de l'Ecole des Hautes Etudes et de l'Institut de Biologie Physico-Chimique, et d'avoir également pu collaborer avec lui pour d'autres recherches que celle qui fait l'objet de cette thèse. Je tiens à exprimer ma reconnaissance au Gouvernement français qui m'a donné la possibilité de séjourner à Paris pendant deux années scolaires, et je remercie également l'Institut de Biologie Physico-Chimique pour l'accueil qu'il réserve aux travailleurs étrangers.

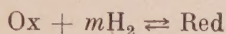
Enfin, je dois à l'obligeance du Professeur C. NEUBERG des échantillons de produits purs et des conseils précieux pour lesquels je lui adresse mes plus vifs remerciements.

Je remercie également M^{me} KHOUVINE et M. Jean GÉLOSO pour l'aide qu'ils m'ont apportée au cours de ce travail.

CHAPITRE PREMIER

LES POTENTIELS D'OXYDORÉDUCTION DES DÉRIVÉS DES GLUCIDES

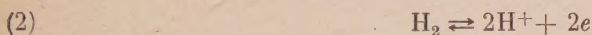
1. Potentiel d'oxydoréduction d'un système. — Un système d'oxydo réduction peut être représenté par un équilibre du type :



où Ox représente un corps sous sa forme oxydée et Red représente son produit d'hydrogénation. On a, en utilisant des crochets pour exprimer les activités des substances :

$$(1) \quad [\text{H}_2] = \left(K \frac{[\text{Red}]}{[\text{Ox}]} \right)^{1/m}.$$

Admettons que l'hydrogène qui s'échange au cours de cette transformation soit, par un mécanisme quelconque, en équilibre avec ses ions H^+ suivant la réaction



e représentant un électron.

On démontre aisément en thermodynamique qu'une électrode inerte plongée dans une solution où l'hydrogène a pour activité $[\text{H}_2]$ et les ions H^+ une activité $[\text{H}^+]$, a par rapport à une électrode d'hydrogène, c'est-à-dire une électrode inerte plongée dans une solution dont les activités en hydrogène et en ions H^+ sont chacune égales à l'unité, une différence de potentiel ΔE_H égale à :

$$(3) \quad \Delta E_H = - \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{[\text{H}_2]^{1/2}}{[\text{H}^+]}$$

où $\mathcal{F}$ est le Faraday, R la constante des gaz, et T la température absolue.

On convient, en outre, de fixer à zéro précisément la valeur de la différence de potentiel entre une électrode de platine platiné et une solution acide saturée d'hydrogène gazeux à 1 atmosphère ($[\text{H}_2] = 1$) et dont l'activité en ions hydrogène est égal à 1 ($[\text{H}^+] = 1$).

La différence de potentiel entre cette électrode appelée *électrode normale d'hydrogène* et une électrode inerte plongée dans une solution quelconque, sera positive, si la solution tend à se réduire et négative si elle tend à s'oxyder. On l'appelle, par abréviation, potentiel de l'électrode, et on lui affecte le symbole E_H . En utilisant les notations :

$$pH = \log \frac{1}{[\text{H}^+]} \quad \text{et} \quad r\text{H}_2 = \log \frac{1}{[\text{H}_2]}$$

on a également :

$$(4) \quad E_H = -\frac{1}{0,4343} \frac{RT}{\mathfrak{F}} pH + \frac{1}{0,4343} \frac{RT}{2\mathfrak{F}} r_{H_2}.$$

En portant dans l'équation (4) la valeur de $[H_2]$ tirée de (1), c'est-à-dire la valeur de l'activité d'hydrogène correspondant à l'équilibre entre Ox et Red, on trouve qu'une électrode inerte plongée dans le système a pour potentiel, à un pH donné, la valeur

$$(5) \quad E_H = E'_0 - \frac{1}{0,4343} \frac{RT}{2m\mathfrak{F}} \log \frac{(\text{Red})}{(\text{Ox})}$$

où Red et Ox expriment les *concentrations* des formes réduite et oxydée, pourvu que ces formes soient des électrolytes très faibles.

La courbe représentant, pour une activité en ions H^+ donnée, le potentiel du système en fonction du rapport de la forme réduite (Red) à la forme oxydée (Ox) est donc une courbe en S dont le point d'inflexion correspond à l'égalité de concentration des formes réduites et oxydée. Au voisinage de ce point, dont le potentiel E'_0 est appelé potentiel normal correspondant à l'activité en ions H^+ de la solution mesurée, des variations importantes du rapport $\frac{\text{Red}}{\text{Ox}}$ se traduisent par de minimes variations du potentiel ; le système est tamponné vis-à-vis des réducteurs et des oxydants comme une solution d'acide faible, en ce qui concerne l'activité des ions H^+ , quand la moitié environ de l'acide est transformé en sel.

On obtient expérimentalement une telle courbe en faisant un titrage électrométrique, c'est-à-dire en ajoutant progressivement un agent oxydant au système d'oxydo-réduction complètement réduit, ou bien un agent réducteur au système préalablement oxydé, et en portant les potentiels du système en fonction des quantités de réactifs ajoutées.

Des courbes de ce genre, représentant le titrage d'un corps intervenant dans le métabolisme ont été obtenues pour la première fois par WURMSER et GÉLOSO, dans le cas des solutions de glucides évoluées à l'abri de l'oxygène.

2. Potentiel des solutions de glucides réducteurs évolués. — WURMSER et GÉLOSO ont montré que, si l'on immerge une électrode inerte dans une solution de glucose ou de fructose maintenue à l'abri de l'oxygène, cette électrode prend au contact de la solution et par rapport à elle un potentiel stable.

Au début, ce potentiel est généralement voisin de $E_H = +0,30$ volt, puis il subit une lente évolution vers la région des potentiels négatifs pour atteindre enfin une valeur bien définie qui reste fixe tant que les conditions de pH ne varient pas. Ce potentiel limite n'est pas affecté par l'introduction dans la solution de faibles quantités de corps en équilibre rapide d'oxydo réduction. Si, d'autre part, l'on introduit ces corps sous la forme oxydée, tous ceux dont le potentiel normal est plus positif que le potentiel limite restent à l'état oxydé. Enfin, si l'on introduit ces corps sous la forme réduite, ceux dont le potentiel

normal est inférieur au potentiel limite sont oxydés et les autres restent à l'état réduit.

Ces résultats montrent que le potentiel limite mesuré électrométriquement dans une telle solution a un sens thermodynamique, puisqu'il permet de prévoir le niveau des oxydations et des réductions susceptibles d'être effectuées par le système. Pour rendre compte de ces faits, WURMSER et GÉLOSO ont admis que la limitation du potentiel était due à l'apparition dans la solution d'un système en équilibre d'oxydo-réduction de potentiel normal voisin de cette valeur limite.

Afin d'établir l'existence de ce système, les auteurs ont titré électrométriquement avec un réducteur, puis avec un oxydant, une solution de glucose ayant atteint son potentiel limite :

$$E_H = -0,17 \text{ volt à } pH = 7,0 \quad \theta = 20^\circ C ; \text{ soit } rH_2 = 8,2.$$

Les mises en équilibre étaient très lentes mais on obtenait une courbe caractéristique de titrage d'un système en équilibre d'oxydo réduction dont le potentiel normal serait voisin de :

$$E_H = -0,05 \pm 0,02 \text{ volt à } pH = 7,2 \quad \theta = 20^\circ C,$$

soit

$$rH_2 = 12,5 \pm 0,6.$$

Les auteurs ont confirmé ces résultats en déterminant les quantités de colorants de potentiel d'oxydo réduction de plus en plus négatifs qui peuvent être réduits par une solution de glucide évolué.

Enfin, un travail de N. MAYER a étendu aux autres glucides réducteurs, au moins en ce qui concerne les potentiels limite, les résultats de WURMSER et GÉLOSO.

3. Interprétation des courbes de titrage. — WURMSER et GÉLOSO ont fait remarquer que la réversibilité d'un système oxydo-réducteur ne peut être démontrée que si l'on sait isoler les formes oxydée et réduite de ce système. En mélangeant alors en proportions variables les deux formes, et en portant le potentiel du mélange en fonction de sa composition, on doit obtenir une courbe en S dont la forme exacte peut être calculée d'après l'équation chimique de l'équilibre (équation 5).

Le titrage permet d'obtenir cette même courbe en versant progressivement un oxydant dans une solution de la forme réduite et un réducteur dans une solution de la forme oxydée. Dans le cas des solutions de glucides, on ne dispose que de la deuxième technique, car on ne sait pas encore obtenir isolément les deux formes oxydée et réduite du système. Or, l'obtention par cette deuxième technique d'une courbe en S dont la partie médiane, sensiblement linéaire a une pente très faible entre certaines limites de potentiel, indique bien qu'à ce niveau de l'hydrogène peut être fixé ou cédé sans variation notable d'énergie utilisable ; mais cet équilibre de l'hydrogène ne correspond pas nécessairement à une réversibilité complète du système chimique. Il se peut que le corps réduit, après avoir

cédé de l'hydrogène à l'oxydant, ne se reconstitue pas identiquement. L'oxydation peut donner naissance à des corps susceptibles d'être réduits à leur tour au même potentiel ou à un potentiel très voisin sans que cette réduction aboutisse nécessairement à la reconstitution du corps de départ. Du point de vue biologique, cette incertitude est en fait peu grave, et ce qui importe est l'existence de systèmes organiques existant dans les cellules et échangeant de l'hydrogène en équilibre avec ses ions à des niveaux de potentiel bien déterminés.

Dans les expériences de WURMSER et GÉLOSO, si, après avoir effectué un premier titrage à l'aide de ferricyanure, on titre le système en retour avec un réducteur tel que le chlorure de titane, on retrouve une courbe en S dont le palier est situé au même niveau mais est moins étendu. Tout se passe comme si la forme oxydée était instable. WURMSER et N. MAYER ont effectivement mis en évidence, au cours de l'oxydation avec le ferricyanure une production de gaz carbonique évidemment irréversible et ils ont montré que si l'on substitue au ferricyanure un autre oxydant tel que le bleu de méthylène, le rapport $\frac{\text{CO}^2 \text{ dégagé (en mol.)}}{\text{oxydant réduit (en H}_2\text{)}}$ s'abaisse de 0,4 à 0,1. Ils conseillent l'emploi d'un colorant d'indophénol pour oxyder la solution au cours du titrage, et nous avons appliqué avec succès cette méthode dans notre travail sur les acides hexuroniques.

CHAPITRE II

LES ACIDES HEXURONIQUES

1. Un facteur réducteur des tissus. — Les recherches de SZENT-GYÖRGYI ont mis en évidence la présence, dans le jus des plantes et dans le cortex de la surrénale, à côté des systèmes péroxydasiques, d'un facteur réducteur. Ce facteur empêche la réaction au gaïacol de devenir positive, avant que lui-même ne soit épuisé, c'est-à-dire complètement oxydé par le peroxyde ajouté, par exemple O_2H_2 . L'oxydation de ce facteur est fortement catalysée par la peroxydase. L'oxydabilité du facteur réducteur est si grande que, tant qu'il en subsiste dans le milieu, les autres substances ne peuvent être oxydées par le complexe peroxydase-peroxyde, et la réaction au gaïacol reste négative.

L'oxydation paraît être réversible, comme le montre l'expérience suivante : on ajoute à une certaine quantité d'extrait de tissu végétal du peroxyde d'hydrogène pour oxyder le facteur réducteur. La réaction à l'acide phosphotungstique devient négative. Si l'on réduit l'extrait ainsi oxydé avec de l'hydrogène sulfuré, la réaction à l'acide phosphotungstique redevient positive.

Selon SZENT-GYÖRGYI, le facteur réducteur extrait par lui fonctionne comme transporteur d'hydrogène entre la peroxydase et les autres systèmes oxydants et réducteurs.

En s'appliquant à déterminer la composition de ce facteur, SZENT-GYÖRGYI est arrivé à séparer un corps nouveau dont il étudie les propriétés chimiques en concluant qu'il s'agit d'un isomère de l'acide glycuronique. En effet, l'analyse a montré la composition suivante :

	Trouvé %	Calculé pour $C_6H_8O_6$ %
C	40,9	40,9
H	4,5	4,5
O	54,6	54,6

Le poids moléculaire est $178 (\pm 2 \%)$ et l'activité optique $[\alpha]_D^{21} = +24^{\circ}1$.

Chauffée à sec, la substance se résinifie en dégageant une forte odeur de caramel. La solution de Fehling et le permanganate sont réduits à froid. La réaction de Molisch est fortement positive avec une couleur pourpre. La réaction

avec l'orcine chlorhydrique, fortement positive. Toutes les réactions typiques des glucides sont positives.

En ce qui concerne la constitution, SZENT-GYÖRGYI pense qu'il s'agit d'un isomère de l'acide glycuronique parce que l'oxydabilité de l'acide extrait des tissus est beaucoup plus grande que celle de l'acide glycuronique. En outre, la solubilité du sel de calcium et la différence dans l'activité optique excluent, d'après SZENT-GYÖRGYI, l'identité avec l'acide étudié par BERTRAND, BOUTRON, RUFFAUD, KILIANI. De même, la haute réactivité et le point de fusion ainsi que l'activité optique excluent, toujours d'après SZENT-GYÖRGYI, l'identité avec l'acide galacturonique.

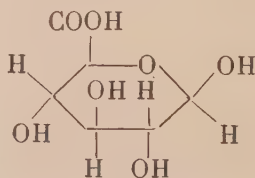
Etant donné la réactivité très grande de l'acide extrait des tissus par SZENT-GYÖRGYI, et, d'autre part, sa présence dans les organismes animaux et végétaux, cette substance présente un intérêt considérable au point de vue des oxydations et réductions. Sa réversibilité et sa parenté avec les glucides réducteurs rendaient vraisemblable que ce corps et ses isomères aient un potentiel d'oxydo-réduction bien défini. On ne possédait toutefois sur ce sujet que quelques données dues à SZENT-GYÖRGYI et à DIXON : les solutions d'acide hexuronique ne réduisent pas l'indigodisulfonate de potassium, l'indigotrisulfonate de potassium, l'indigotétrasulfonate de potassium. L'acide 1 naphtol, 2 sulfonique, 2, 6 dichloroindophénol est réduit. Le 2,6 dibromoindophénol est réduit très rapidement. Enfin, une électrode d'or, plongée dans une solution à pH 7 atteint un potentiel de + 0,090 volt, correspondant à $rH_2 = 17,14$.

Mais ces données correspondent vraisemblablement au potentiel limite d'une solution incomplètement réduite. Nous avons cherché, au cours de ce travail, à établir le potentiel vraiment caractéristique du système, c'est-à-dire son potentiel normal, cette valeur seule ayant une signification thermodynamique utilisable.

2. Les acides glycuronique et galacturonique. — Etant donné la parenté chimique de l'acide hexuronique avec les acides glycuronique et galacturonique, nous nous sommes appliqué à faire quelques recherches sur ces acides au point de vue des propriétés oxydo-réductrices.

L'acide glycuronique est un acide aldéhyde que l'on obtient en oxydant le groupe CH_2OH du glucose. On le prépare soit par la réduction de l'acide saccharique à l'aide de l'amalgame de sodium, soit en l'extrayant de l'urine d'animaux auxquels on a fait ingérer du menthol, ou encore par l'hydrolyse de l'acide euxanthinique.

Sa formule, d'après HAWORTH est la suivante :



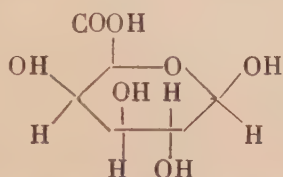
Il ne cristallise pas sous cette forme, mais sous forme d'anhydride ($C_6H_8O_6$).

Les cristaux sont microscopiques ; ils ont un point de fusion de 170° , et un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = 19^{\circ},1$. Il donne toutes les réactions des sucres en général, et, en plus, réduit à froid la liqueur de Fehling.

L'acide glycuronique est très répandu dans la nature, de telle sorte qu'on le trouve constamment dans le sang et dans l'urine des animaux. Il n'existe pas à l'état libre dans l'urine, mais s'y trouve sous forme de dérivés formés par couplage. La quantité éliminée sous cette forme est comprise entre 0,06 et 0,370 gr. par 24 heures pour l'homme.

L'acide galacturonique est un acide aldéhyde qui correspond au galactose dont la fonction alcool est oxydée en groupe carboxyle. Il est très répandu dans la nature où on le trouve comme constituant de matière pectiques sous forme d'acide tétragalacturonique. On le prépare par hydrolyse de l'acide pectique.

Sa formule est la suivante :



L'acide galacturonique cristallise en aiguilles microscopiques ; son point de fusion est 159° - 160° ; son pouvoir rotatoire dans l'eau, après 24 heures, de $+53,59^{\circ}$.

Il possède les mêmes réactions que l'acide glycuronique, mais donne de l'acide mucique par oxydation.

CHAPITRE III

TECHNIQUE

1. Dispositif du titrage électrométrique. — La technique employée est celle qui a été indiquée par WURMSER et GELOSO et qui permet de faire les mesures en vases clos après élimination de l'oxygène gazeux. On se débarrasse de l'oxygène en faisant soigneusement le vide dans l'appareil à l'aide d'une trompe, et on évite ainsi, au cours des mesures, le barbotage de l'azote dans la solution. Ce gaz, très difficilement privé de toute trace d'oxygène, laisse, en effet, toujours un doute sur la signification du potentiel mesuré.

L'élément (fig. 1) est constitué par un ballon B de 100 cm³ muni d'une électrode inerte E, et contenant la solution à titrer. Un robinet étanche à cuvette de mercure R fait correspondre avec ce ballon une burette graduée B' contenant l'oxydant ou le réducteur. D'autre part, le ballon B communique par un tube capillaire P avec un autre tube vertical V contenant en C les éléments d'une électrode de référence de potentiel constant. Le passage du courant est assuré par l'électrolyte fixé sur la surface interne du tube P, du tube V et du ballon B. Pour que la résistance de cette couche ne soit pas trop forte, il est nécessaire d'utiliser pour la construction de l'appareil un cristal facilement attaquable. Le cristal Martin donne les meilleurs résultats. Afin que le courant ne passe pas entre *m* et *n* par l'extérieur du tube, on enduit l'appareil extérieurement, en F et G, avec du ciment De Khotinski (medium) qui est isolant.

L'appareil ayant été soigneusement nettoyé avec de l'acide sulfo-chromique (laissé 24 h. au contact) puis bien rincé à l'eau distillée, on verse le liquide à examiner dans le ballon B par le robinet R dont la partie mobile a été enlevée ; on remet cette partie mobile soigneusement graissée et on remplit la cuvette de mercure. Puis on introduit en C, par l'orifice N, la solution de référence constituée par une solution saturée de KCl contenant une suspension de calomel, et en B', par M, la solution devant servir au titrage. On scelle N ; puis on opère un étranglement au milieu du tube M par lequel on fait le vide pendant 10 minutes, et on scelle à la lampe.

Les opérations ayant été suivies pendant un temps relativement long (quinze jours au moins) nous avons, pour éliminer la distillation lente d'une solution à l'autre, employé pour les tubes P et T des tubes capillaires.

Les mesures de force électromotrice peuvent être effectuées entre *m* et *n* grâce à la mince couche d'électrolyte adsorbée sur la surface intérieure du cristal ; la résistance de ce pont ne dépasse pas 10⁷ ohms. D'autre part, la substance isolante (ciment de De Khotinski) répartie autour de chaque branche de l'appareil, empêche le courant de passer par la surface extérieure de l'appareil.

Généralement, on emploie des ponts au KCl, tels que les vitesses de diffusions équivalentes de K et de Cl donnent une force électromotrice de diffusion nulle. Comme on l'a vu, dans le cas présent, notre pont n'est pas au KCl ; il y a donc production d'une force électromotrice de diffusion ; mais, comme nos me-

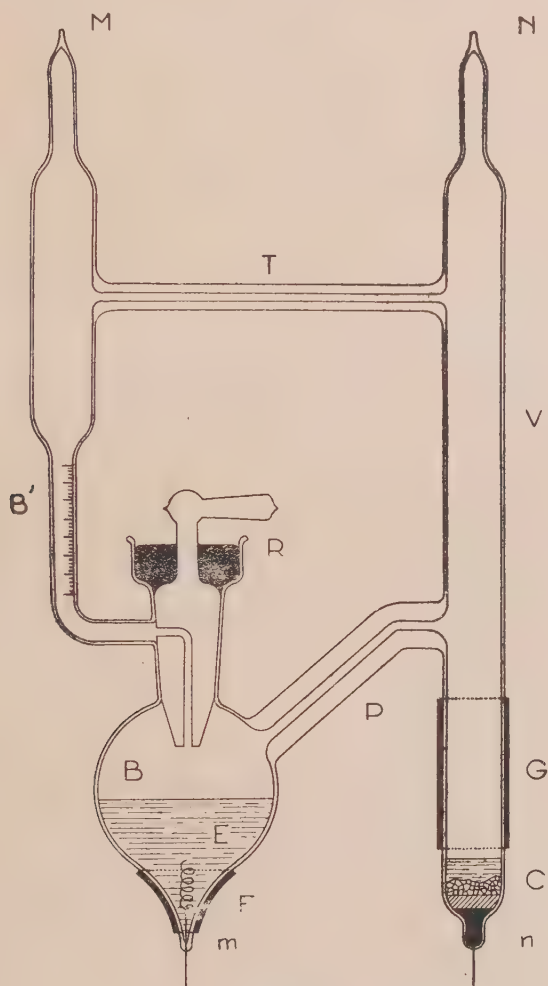


Fig. 1.

sures, reproduites à plusieurs reprises, donnent des résultats variant entre 20-30 millivolts, on peut considérer cette différence de potentiel comme pratiquement négligeable.

Les mesures de force électromotrices ont été effectuées par la méthode d'opposition, en employant comme appareil de zéro un bon électromètre. Celui que j'ai utilisé est l'électromètre à lampe triode, conçu par COURTINES et GÉLOSO qui permet de mesurer facilement le millivolt. Cet appareil ne nécessite pas de

prise de terre, et présente par sa simplicité et sa robustesse une grande supériorité sur les autres électromètres ; il est d'un maniement aisé et d'un entretien facile. Le schéma de cet appareil est reproduit dans la figure 2.

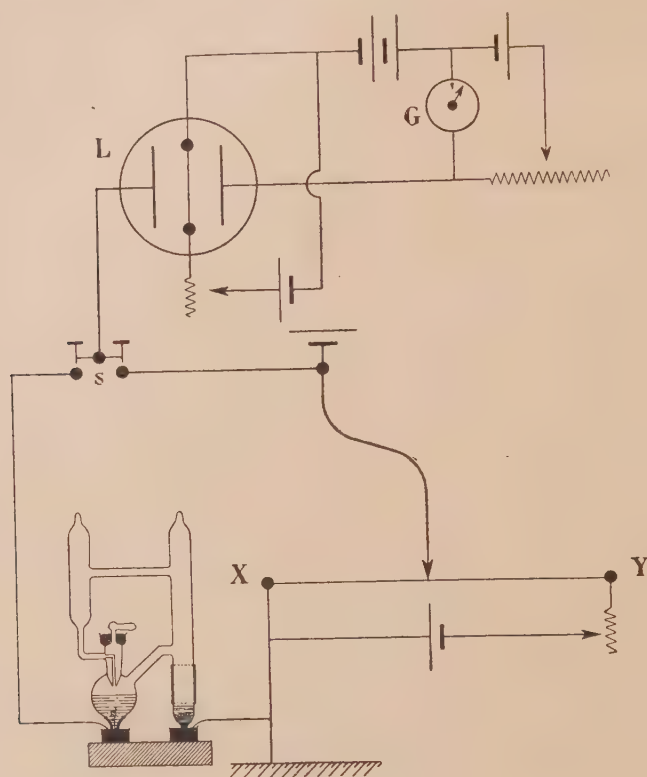


Fig. 2.

2. Marche d'un titrage. — Dès que les solutions sont dans l'appareil, on fait immédiatement une première mesure de potentiel ; puis on fait de nouvelles mesures toutes les heures. Le potentiel commence par descendre vers la région des potentiels négatifs pendant 24 heures. A ce moment, on peut considérer que le potentiel limite est atteint. Une observation d'une quinzaine de jours m'a permis de constater que le potentiel, à ce niveau, montre une stabilité absolue.

Une fois que le potentiel limite est atteint, on commence le titrage avec du ferricyanure, en procédant de la manière suivante :

On verse, à l'aide du robinet R, cinq gouttes de la solution de ferricyanure dans la solution à titrer. Le potentiel monte brusquement vers la région positive (sens $- \rightarrow +$) ; quelques instants après, le potentiel redescend et tend à reprendre sa valeur initiale, c'est-à-dire la valeur limite qu'il avait après 24 heures (sens $+ \rightarrow -$). La variation de potentiel peut alors être considérée comme terminée, et le système se retrouve en équilibre. Pour être bien sûr de cet équilibre, on peut attendre de nouveau 24 heures ; puis on ajoute de nouveau cinq gouttes

de la solution d'oxydant. On attend que l'équilibre soit rétabli, puis on continue de la même manière jusqu'au moment où, après que l'on a ajouté les cinq gouttes d'oxydant, le potentiel monte et ne redescend plus. A ce moment, le système peut être considéré comme épuisé en ce qui concerne ses propriétés oxydo-réductrices.

Si l'on porte, en fonction de la quantité de ferrieyanure introduit, les points finaux des courbes ainsi obtenues, on obtient la courbe représentée par le graphique 3.

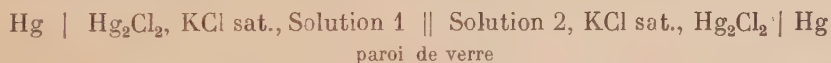
En examinant cette courbe, on constate qu'elle possède un palier bien défini, c'est-à-dire qu'elle présente la caractéristique fondamentale d'une courbe de titrage d'un système en équilibre d'oxydo-réduction.

Le potentiel normal, déduit de la courbe de titrage, est exprimé en unités $rH_2 = 15 \pm 0,5$ à $pH\ 7$, $\theta = 20^\circ C$.

3. Détermination du pH . — En ce qui concerne la détermination du pH , j'ai employé la méthode électrométrique à électrode de verre. Les autres méthodes ne pouvaient pas être utilisées en raison de l'existence du système d'oxydo-réduction dans mes solutions.

Lorsque deux solutions de concentration en ions H^+ différente sont séparées par une paroi de verre très mince (25 μ dans sa partie la plus mince) et quand chacune d'elles est raccordée à une électrode de calomel à KCl saturé, la pile de concentration ainsi formée donne un potentiel qui est fonction de pH des deux solutions, de la température et du potentiel de la membrane de verre.

Le système fonctionne comme une électrode pouvant servir à la mesure des pH , et présente cet aspect :



et l'équation de la pile s'écrit $E_A = \frac{RT}{\mathcal{F}} (pH_1 - pH_2) + E_{\text{verre}}$. dans laquelle E_A représente le potentiel mesuré, et E_{verre} , le potentiel de la membrane. On ne connaît pas bien le mécanisme du fonctionnement de l'électrode de verre ; peut-être s'agit-il d'un potentiel de diffusion d'ions H^+ au contact des deux solutions.

On détermine le potentiel de la membrane, soit en mettant de part et d'autre la même solution, soit en mettant des solutions de pH différents, mais connus.

Dans le premier cas, $E = E_{\text{verre}}$ (parceque $\frac{RT}{\mathcal{F}} + (pH_1 - pH_2) = 0$ dans le second cas, $\frac{RT}{\mathcal{F}} (pH_1 - pH_2)$ étant connu, on calcule E_{verre}).

Cette électrode présente de nombreux avantages : le potentiel est stable, il prend sa valeur immédiatement, et on a besoin de très petites quantités du liquide à analyser (0,5 cm^3 par exemple) ; de plus, la coloration, le manque de limpidité, l'oxydabilité, l'instabilité à l'air du liquide à examiner n'entravent pas le bon fonctionnement de l'électrode ; enfin, la mesure peut être faite en cinq minutes et le produit reste inaltéré après la mesure.

La membrane présente une très grande résistance au passage du courant ;

par suite, pour éviter que des court-circuits se produisent, il faut s'assurer de la siccité parfaite des parois ; en outre, il est bon de mettre deux anneaux de ciment de De Khotinski.

L'influence de la composition du verre sur le fonctionnement de l'électrode a été étudiée. Le verre mou, au sodium, peut être utilisé ; mais d'après Mac INNES, le verre qui donne les résultats les meilleurs est celui qui a la composition suivante :

$$\text{SiO}_2 \text{ 72 \%}, \quad \text{Na}_2\text{O 12 \%}, \quad \text{CaO 6 \%}.$$

Fréquemment, on prend une solution tampon de phosphate de potassium de pH environ 7,0 comme état de référence, et on la met à l'intérieur de l'électrode, soit pH_1 l'acidité de cette solution. On prend d'autre part, une solution dont le pH est exactement connu, par exemple une solution $n/20$ de phtalate acide de potassium ($pH = 3,97$ à 18°) au lieu du tampon de MICHAELIS ($pH = 4,62$ à 18°), et on la met dans la petite cellule à paroi mince. Soit E_c le potentiel mesuré : $E_c = 0,0577 (pH_1 - 3,97) + E$ verre à 18° . On remplace la solution de phtalate par la solution à analyser (pH_x) Soit E_x le potentiel mesuré, on a $E_x = 0,0577 (pH_1 - pH_x) + E$ verre à 18° . E peut être positif ou négatif.

On a : $pH_x = 3,97 \pm \frac{E_c - E_x}{0,0577}$ à 18° . En ce qui concerne le montage électrique, celui que j'ai utilisé est le même que celui qui m'a servi pour la mesure du potentiel dans les piles déjà décrites. Il permet de mesurer le millivolt, et d'obtenir une précision de 0,02 unités de pH .

4. Mesures colorimétriques. — Un certain nombre de déterminations ont été faites par la méthode colorimétrique.

Cette méthode due à MANSFIELD CLARK, consiste à introduire, en quantité aussi petite que possible, dans le milieu dont on veut déterminer le potentiel d'oxydoréduction, des corps en équilibre dont la couleur varie suivant qu'ils sont ou non réduits. Quand un colorant est ainsi introduit dans un milieu, il vire vers la couleur de sa forme oxydée ou celle de sa forme réduite, suivant que le potentiel du milieu est plus positif ou plus négatif que celui du colorant lui-même.

Le tableau suivant donne les valeurs du potentiel normal E'_0 à pH 7 et les valeurs correspondantes de rH_2 pour les indicateurs employés dans ce travail. Ces données sont empruntées aux travaux de CLARK et de ses collaborateurs et de RAPKINE, STRUYK et WURMSER. Les chiffres représentent en millivolts, la valeur de E'_0 à pH 7 pour chacun des indicateurs, ainsi que la valeur correspondante de rH_2 .

Indicateurs	E'_0 à pH 7 (en mv)	rH_2
2,6, dibromophénol-indophénol	0,217	21,3
Acide 1 naphto, 2 sulfo., 2,6 dichloro indophénol.....	0,119	18,0
Violet de Lauth.....	0,062	16,0
Bleu de crésyle	0,032	15,1
Bleu de méthylène	0,011	14,4
Indigo-tétrасulfonate de sodium.....	—0,046	12,5
Indigo-disulfonate de sodium.....	—0,125	9,9
Bleu de Nil	—0,142	9,2
Phénosafranine	—0,242	5,7
Vert Janus.....	—0,258	5,2

CHAPITRE IV

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1. Etude de l'acide hexuronique. — *Préparation de l'acide hexuronique.* —

L'acide hexuronique a été préparé, suivant la méthode de SZENT-GYÖRGYI à partir des oranges.

Les fruits mûrs sont coupés en deux et pressés à l'aide d'un presse-citron. Puis, le jus est filtré sur une mousseline, et, à chaque litre de jus filtré, on ajoute 0,1 cm³ de cyanure de sodium à 10 %. Le liquide est amené à pH 6,2 et additionné d'une solution saturée d'acétate de baryum suffisante pour réaliser une concentration à 5 % ; il est ensuite placé à la glacière dans des bouteilles pleines et fermées, et il est filtré le lendemain sur pulpe de papier. Le filtrat est concentré « in vacuo » à 25° au cinquième de son volume ; il est refroidi dans la glace et filtré encore une fois après formation d'un nouveau précipité. Après une nouvelle addition de cyanure de sodium (0,1 cm³ à 10 %, par litre), et, ensuite, une addition d'acétate de plomb en solution saturée, suffisante pour réaliser une concentration de 10 %, le liquide est refroidi dans la glace. En agitant soigneusement, on ajoute de l'ammoniaque, en quantité juste suffisante pour obtenir la coloration bleue du bromothymol. Puis, le liquide est rapidement filtré ; le précipité est lavé avec de l'eau et mis en suspension dans un volume d'eau aussi faible que possible, puis décomposé par l'acide sulfurique, en évitant l'excès d'acide.

Après avoir éliminé le sulfate de plomb par filtration, on amène le pH à 6, et, si cela est nécessaire, on réduit par distillation dans le vide, le volume du liquide à un vingtième de son volume original. On ajoute à ce liquide trois fois son volume d'alcool à 96°, et, après séparation du précipité qui se forme éventuellement, on ajoute au mélange un excès de solution chaude d'acétate de plomb. Le liquide est refroidi, pendant une heure, dans la glace et filtré, et le précipité est séché, dans le vide, sur de l'acide sulfurique. Le précipité sec est pulvérisé, et mis en suspension dans l'acétone fraîchement distillée et exempte d'eau, en prenant 100 cm³ d'acétone par litre de jus. On fait passer un courant de H₂S jusqu'à ce que le précipité soit décomposé entièrement, puis l'acétone est évaporée à basse température et portée à un tout petit volume. On ajoute le même volume d'éther, et un excès de pétrole léger qui précipite un produit huileux en retenant la plus grande partie de l'acide acétique. Le précipité huileux est porté dans un Erlenmeyer (le flacon à distiller ayant été lavé avec quelques cm³ d'alcool méthylique). Le sirop est séché « in vacuo » sur de l'acide sulfurique, en mettant du NaOH papier dans le dessiccateur. Le résidu solide est extrait à plusieurs reprises avec de petites quantités (5 cm³) d'acétone exempte d'eau ; cette acétone

est ensuite évaporée in vacuo à basse température. Le résidu est dissous dans 2-3 cm³ d'alcool méthylique ; puis on ajoute 15 cm³ d'éther exempt d'eau. S'il se forme un précipité, on le sépare et on l'extraie par l'acétone ; l'acétone étant traitée ensuite comme nous l'avons indiqué plus haut. A la solution claire alcool-éther, on ajoute un excès de pétrole léger (10 fois le volume du liquide) et le mélange est porté à la glacière.

Le lendemain on trouve un précipité cristallin au fond du tube, avec un peu de produit huileux. Les cristaux sont lavés avec de l'acétone refroidie. Pour éliminer les traces d'acétone, on lave à nouveau avec de l'éther.

L'acide hexuronique préparé par cette méthode, est mis en solution aqueuse et neutralisé à l'aide d'une solution diluée d'hydroxyde de sodium. On ajoute à cette solution 15 cm³ environ de solution tampon phosphates 0,5 M, à pH 7. J'ai généralement travaillé avec une solution qui contenait 100 mgr. d'acide hexuronique pour chaque expérience.

Etant donné qu'il y a toujours du glucose dans les produits que j'ai utilisés pour la préparation de l'acide hexuronique, et que le glucose peut être l'origine d'un système qui possède des propriétés oxydo-réductrices connues, j'ai pris soin de travailler à des pH toujours inférieures à 7,2. Dans ces conditions, même s'il se trouvait du glucose dans mes liquides d'expérience, il aurait fallu plusieurs mois pour qu'un système oxydo-réducteur prenne naissance et puisse intervenir dans les phénomènes observés.

Résultats expérimentaux. — L'appareil employé est l'élément à une burette (B'). La solution introduite dans le ballon est constituée par :

100 mgr. d'acide hexuronique ;

15 cm³ de solution aqueuse de tampon phosphate de sodium monomoléculaire à pH 7, à 20° C.

La burette, contient une solution de ferricyanure de potassium à 10 % en solution aqueuse.

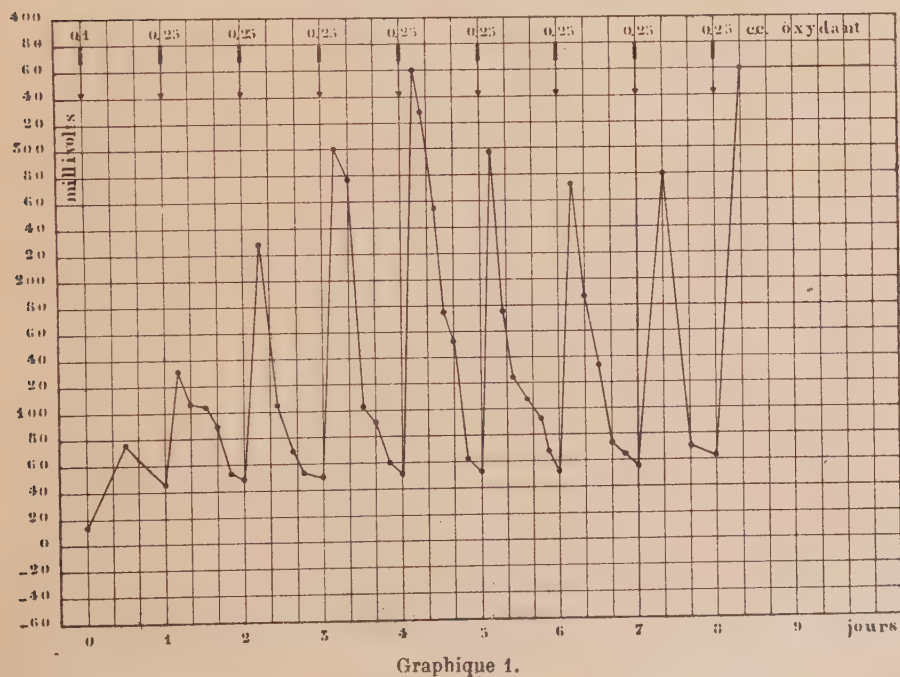
L'électrode de référence est l'électrode de calomel avec KCl saturé.

Acide hexuronique : 100 mgr. dans tampon phosphaté pH 6,9

Solution oxydante : $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ à 10 %. $\theta = 20^\circ$.

Date	E_H (en mv)
13-4-31	254
14 » »	14
15 » »	14
16 » » On ajoute 0, 1 d'oxydant	68, 50
17 » »	46
17 » »	46
18 » » On ajoute 0,25 d'oxydant	142, 108, 96, 80, 76, 54
19 » »	50
19 » »	50
20 » » On ajoute 0,25 d'oxydant	230, 104, 90, 58
21 » »	50
21 » »	52
22 » » On ajoute 0,25 d'oxydant	300, 278, 102, 92, 60
23 » »	54
23 » »	54
29 » » On ajoute 0,25 d'oxydant	360, 330, 254, 176, 152, 64
30 » »	54
30 » »	55
1-5-31 On ajoute 0,25 d'oxydant	296, 176, 114, 108, 104, 92, 70
2 » »	54
2 » »	54
3 » » On ajoute 0,25 d'oxydant	274, 186, 134, 74, 66
4 » »	58
4 » »	60
5 » » On ajoute 0,25 d'oxydant	290
6 » »	70
6 » »	68
7 » » On ajoute 0,25 d'oxydant	370
8 » »	368
8 » »	368

pH final 6,9. Quantité totale $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3 = 2,1 \text{ cm}^3$

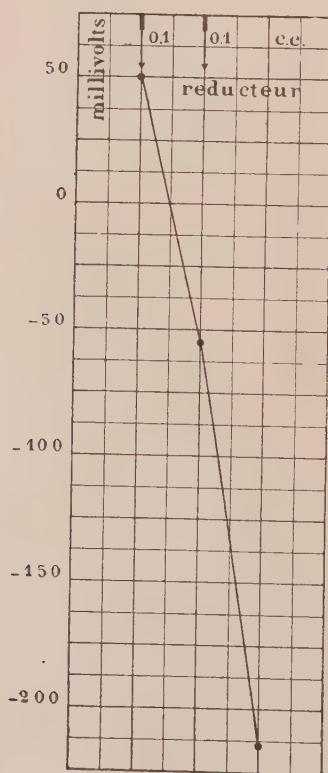


Acide hexuronique : 100 mgr. dans tampon citaté pH = 6,9

Solution réductrice : TiCl_3 1 cm³, correspond à $1,5 \times 10^{-4} \text{H}_2$

Date		E _H (en mv)
30-4-31		34
	On ajoute 0, sol. TiCl_3	— 186
1-5-31		— 202
2 » »		— 38
4 » »		— 56
5 » »		— 58
6 » »		— 58
	On ajoute 0,1 sol. TiCl_3	— 182
7 » »		— 270
8 » »		— 284
9 » »		— 216
.		.
12 » »		— 216

pH final 6,9.



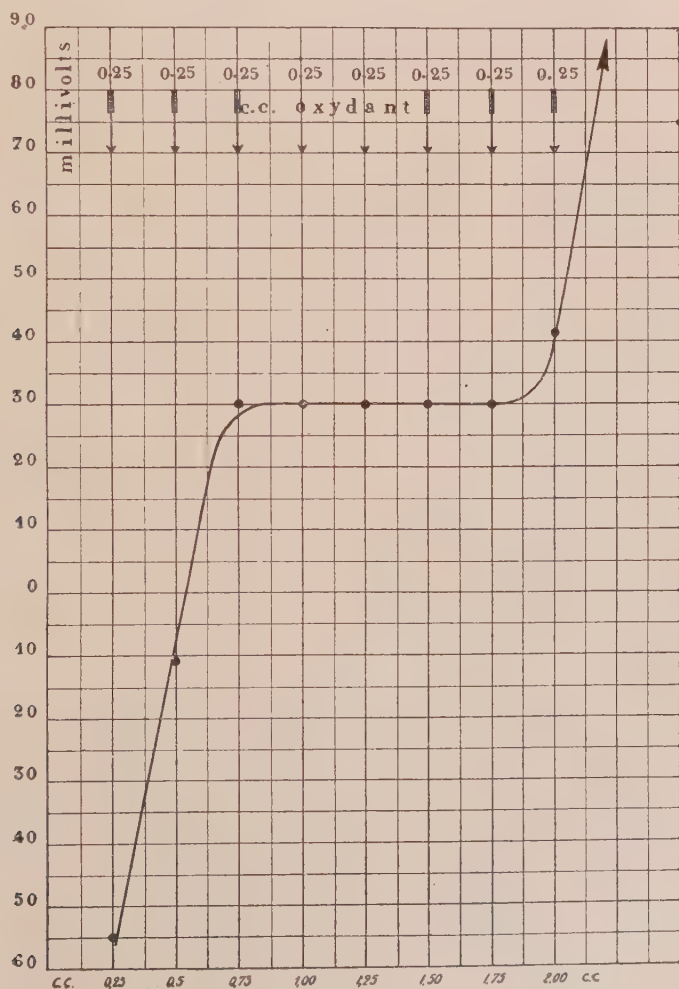
Graphique 2.

Acide hexuronique : 100 mgr. dans tampon phosphaté pH = 7

Solution oxydante : $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ à 10 %. $\theta = 20^\circ$

Date		E_H (en mv)
26-12-31		232
27 » »		— 50
28 » »		— 50
29 » »	On ajoute 0,25 d'oxydant	150, 130, 110, 84, 64, 46, 34, .., 10
1 1 32	On ajoute 0,25 d'oxydant	— 10
2 » »		170, 150, 128, 76, 50, 66
3 » »		30
4 » »	On ajoute 0,25 d'oxydant	30
5 » »		290, 230, 170, 130, 108, 80, 54
6 » »		32
7 » »	On ajoute 0,25 d'oxydant	30
8 » »		290, 220, 180, 154, 144, 130, 106, 74
9 » »		30
10 » »	On ajoute 0,25 d'oxydant	30
11 » »		320
12 » »		32
13 » »	On ajoute 0,25 d'oxydant	30
14 » »		280
		34
		30
	On ajoute 0,25 d'oxydant	254
		42
		40
	On ajoute 0,25 d'oxydant	410
		398
		297

pH final 7. Quantité totale de : $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ employée = 2 cm³



Graphique 3.

Données colorimétriques. — Des expériences colorimétriques ont été réalisées dans le but de vérifier l'existence d'une forme réversible dans les systèmes que nous avons étudiés.

Nous avons préparé une solution d'acide hexuronique dans du tampon phosphaté à pH 7. Nous avons réparti cette solution dans cinq tubes à essai, en mettant dans chaque tube 2 cm³ d'une solution à 1 %, et nous avons ajouté dans chacun des tubes une quantité de colorant juste suffisante pour colorer la solution. Les colorants employés ont été : le violet de Lauth, le bleu de crésyle, le bleu de méthylène, le bleu de Nil, la phénosafranine. Les tubes scellés à la lampe, après que le vide y a été fait, ont été gardés à 20°.

Le violet de Lauth et le bleu de crésyle sont nettement décolorés. Le bleu de méthylène l'est partiellement ; le bleu de Nil et la phénosafranine ne le sont pas du tout. Etant donné la position qui a été trouvée pour le palier de l'acide hexuronique, on voit que les résultats concordent très bien avec les données électrométriques.

Les solutions décolorées, se recolorent instantanément lorsqu'elles sont agitées à l'air.

2. Etude des acides glycuronique et galacturonique. — *Préparation des acides.* — Nous avons travaillé avec des solutions préparées en partant des lactones de ces acides. L'acide glycuronique provient d'urine de chiens traités avec du menthol, et l'acide galacturonique provient de l'hydrolyse de l'acide pectique. Ces deux substances ont été mises à notre disposition par le Professeur NEUBERG de Dahlem et nous lui exprimons nos plus profonds remerciements.

Les solutions ont été préparées à la même concentration que l'acide hexuronique, et utilisées de la même manière.

Résultats expérimentaux. — En considérant les graphiques qui suivent, on remarque que le potentiel limite, ainsi que le potentiel normal, présente des analogies très grandes avec ce qu'on obtient en travaillant avec l'acide hexuronique. Mais il y a une différence très importante en ce qui concerne la vitesse de la réaction ; elle est deux fois moindre que la vitesse de la réaction de réduction du ferrieyanure par l'acide hexuronique.

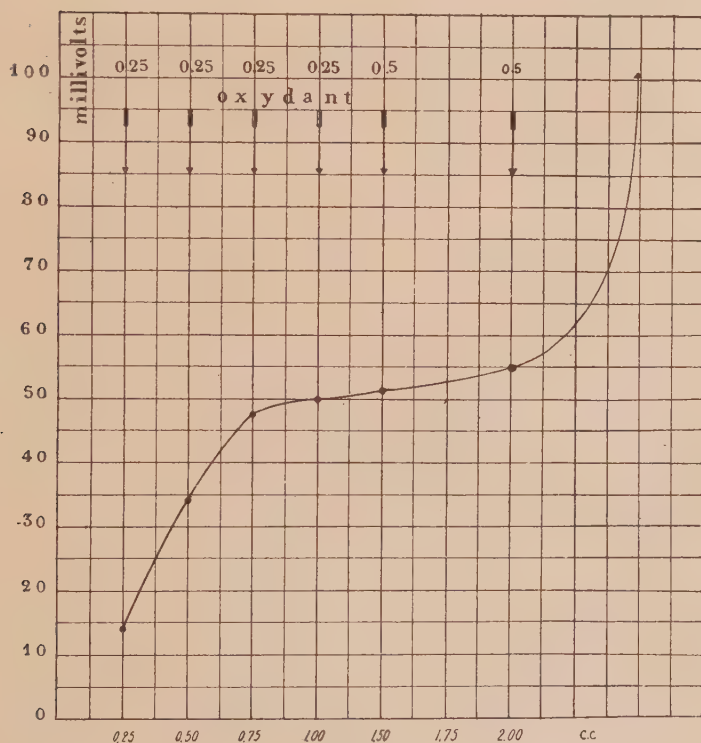
Nous avons essayé de modifier cette vitesse, et nous avons constaté qu'en faisant évoluer dans le vide l'acide galacturonique dans une solution alcaline, la vitesse de réaction s'accroît et devient égale à celle de l'acide hexuronique. C'est une sorte d'activation qui se produit, comme si l'acide hexuronique représentait la forme active et l'acide galacturonique la forme moins active du même corps.

Acide glycuronique : 100 mgr. dans tampon phosphaté à pH = 6,9

Solution oxydante : $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ à 10 ‰ $\theta = 20^\circ$

Date		E_H (en mv)
7-7-31		358
8 » »		64
9 » »		14
10 » »		16
11 » »		14
12 » »	On ajoute 0,25 oxydant	300
13 » »		106
13 » »		34
14 » »		34
15 » »	On ajoute 0,25 oxydant	320
16 » »		110
17 » »		48
18 » »	On ajoute 0,25 oxydant	48
19 » »		370
19 » »		134
20 » »		50
21 » »	On ajoute 0,25 oxydant	50
22 » »		365
23 » »		80
23 » »		52
24 » »	On ajoute 0,50 oxydant	52
25 » »		380
26 » »		108
26 » »		55
27 » »	On ajoute 0,50 oxydant	55
28 » »		387
28 » »		390
28 » »		389

pH final = 6,9. Quantité totale de $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3 = 2 \text{ cm}^3$.



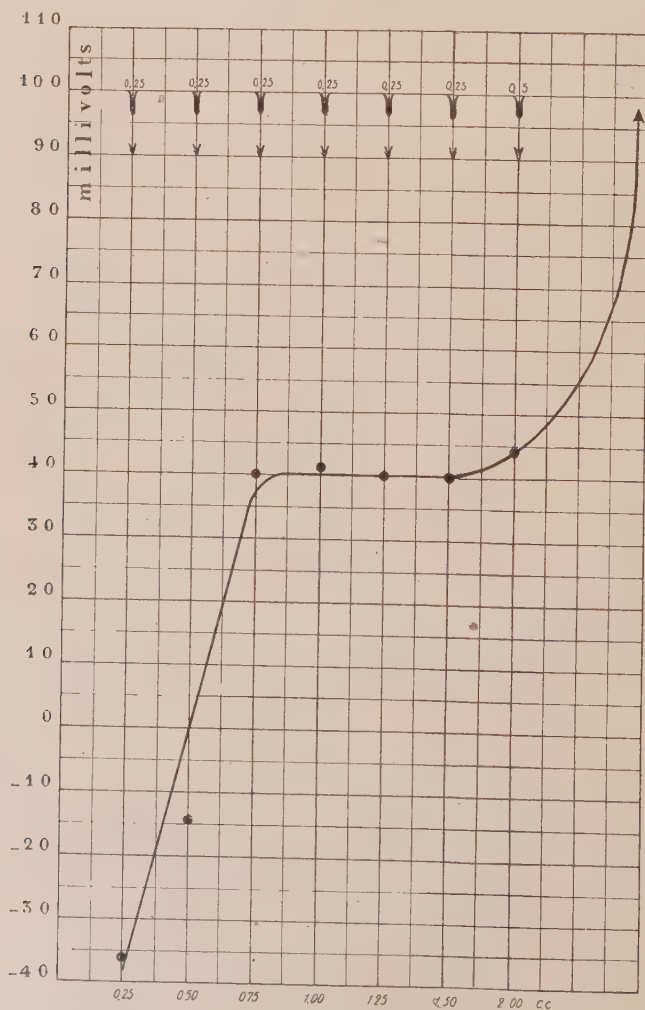
Graphique 4.

Acide glycyrronique : 100 mgr. dans tampon phosphaté pH = 7,07

Solution oxydante : $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ à 10 ‰ 0 = 20

Date		E_H (en mv)
24-12-31		216
25 » »		— 36
26 » »		— 36
27 » »	On ajoute 0,25 oxydant	330, 320, 310, 290, 250, 220 6' 7' 8' 9' 10' 11
		204, 186, 166, 152, 146, 86
28 » »		— 14
29 » »	On ajoute 0,25 oxydant	— 14
30 » »		110
31 » »		58
1-1-32		40
3 » »	On ajoute 0,25 oxydant	40
4 » »		90
5 » »		40
6 » »	On ajoute 0,25 oxydant	42
7 » »		110
8 » »		40
9 » »	On ajoute 0,25 oxydant	40
10 » »		124
11 » »		40
12 » »	On ajoute 0,25 oxydant	40
13 » »		50
14 » »		40
15 » »	On ajoute 0,5 oxydant	41
16 » »		110
17 » »		370

pH final = 7. Quantité de $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3 = 2 \text{ cm}^3$



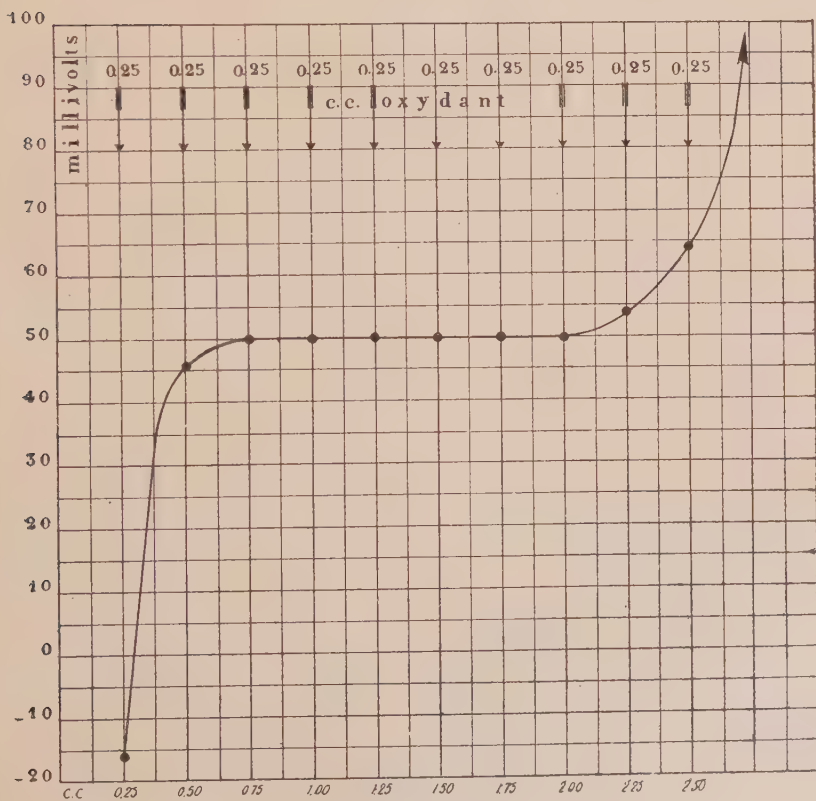
Graphique 5.

Acide galacturonique : 50 mgr. évolué dans le vide, avec 5 cm³ NaOH n/50

Solution oxydante : Fe(CN)₆K₃ à 10 ‰ · pH = 7,1 0 = 18

Date		E _H (en mv)
2-10-31		160
3 » »		— 2
4 » »		— 16
5 » »		— 16
	On ajoute 0,25 oxydant	+ 30
6 » »		+ 46
7 » »		46
	On ajoute 0,25 oxydant	106
8 » »		50
9 » »		50
	On ajoute 0,25 oxydant	170
10 » »		54
11 » »		50
	On ajoute 0,25 oxydant	302
12 » »		54
13 » »		50
	On ajoute 0,25 oxydant	286
14 » »		52
15 » »		50
	On ajoute 0,25 oxydant	280
16 » »		54
17 » »		50
	On ajoute 0,25 oxydant	330
18 » »		50
19 » »		50
	On ajoute 0,25 oxydant	390
20 » »		54
21 » »		56
24 » »		56
	On ajoute 0,25 oxydant	412
25 » »		66
26 » »		68
27 » »		68
	On ajoute 0,25 oxydant	410
28 » »		370
29 » »		370
30 » »		370

pH final = 7. Quantité Fe(CN)₆K₃ employée = 2,5 cm³



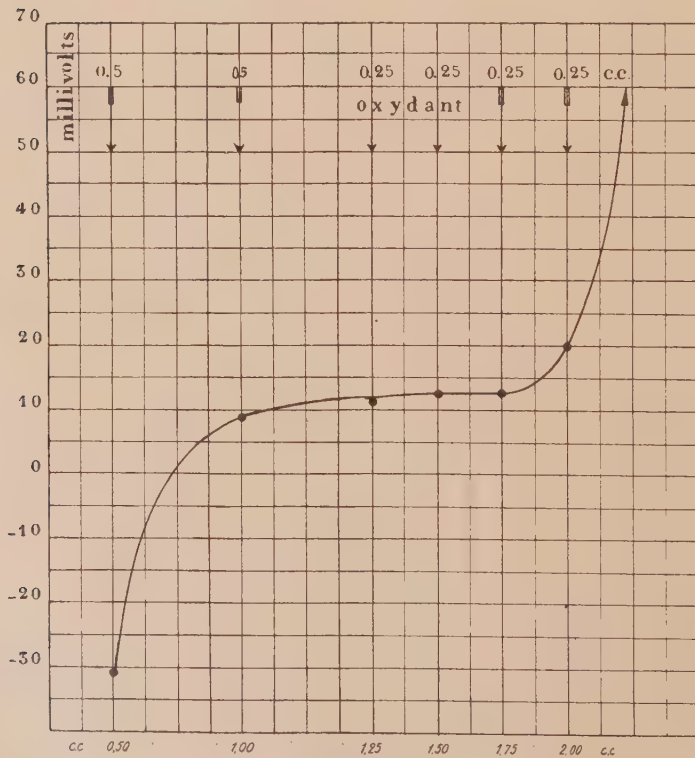
Graphique 6.

Acide galacturonique : 100 mgr. dans tampon phosphaté pH 7,23

Solution oxydante $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ à 10^{-6} / g

Date		E_H (en mv)
16-10-31		410
17 » »		— 10
18 » »		— 30
19 » »		— 32
20 » »		— 31
21 » »		— 31
	On ajoute 0,5 oxydant	394
22 » »		50
23 » »		8
24 » »		9
	On ajoute 0,5 oxydant	370
25 » »		70
26 » »		10
27 » »		11
	On ajoute 0,25 oxydant	430
28 » »		36
29 » »		12
30 » »		13
	On ajoute 0,25 oxydant	370
1-11-31		204
2 » »		30
3 » »		12
4 » »		13
5 » »	On ajoute 0,25 oxydant	450
6 » »		130
7 » »		20
8 » »		22
9 » »	On ajoute 0,25 oxydant	510
10 » »		450
11 » »		450
14-11-31		450

pH final 7,2. Quantité de $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ employée = 2 cm^3

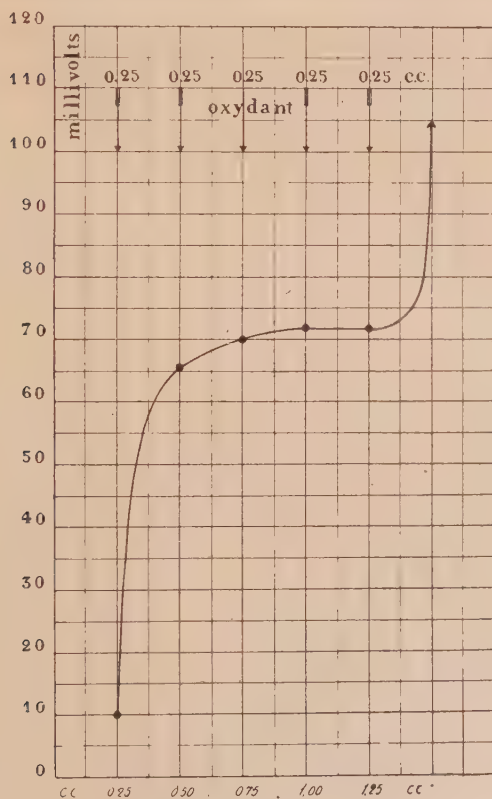


Graphique 7.

Acide galacturonique : 50 mgr. dans tampon phosphaté 0,5 M · pH 6,9
Solution oxydante $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ à 10 ‰

Date		E_H (en mv)
17-7-31		422
18 " "		234
19 " "		8
20 " "		10
21 " "		10
22 " "	On ajoute 0,25 oxydant	214
23 " "		106
24 " "		64
25 " "	On ajoute 0,25 oxydant	230
26 " "		166
27 " "		114
28 " "		70
29 " "	On ajoute 0,25 oxydant	290
30 " "		220
31 " "		80
		72
	On ajoute 0,25 oxydant	372
1-8-31		180
2 " "		110
3 " "		70
4 " "		72
	On ajoute 0,25 oxydant	390
5 " "		300
6 " "		300
7 " "		300

pH final 6,9. Quantité $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$ employée = 1,25 cm³



Graphique 8.

Titrage en retour de la solution préalablement oxydée. — L'appareil employé est le même que celui qui nous a servi à pratiquer le titrage avec un oxydant, et que nous avons décrit plus haut.

La solution placée dans le ballon est constituée par 10 cm³ de solution tampon : citrate de sodium, 0,5 M, à pH = 6,9, contenant en solution 40 mgr. d'acide glycuronique neutralisé. On commence par oxyder cette solution à l'aide du O-chlorophénol-indophénol en ajoutant à la fin un tout petit excès. On bouche le ballon et on introduit dans la burette une solution de citrate de titane, dont chaque cm³ correspond à $0,17 \times 10^{-4}$ H₂. (l'étalonnage de cette solution étant fait par titrage contre une solution de Fe (CN)₆ K₃).

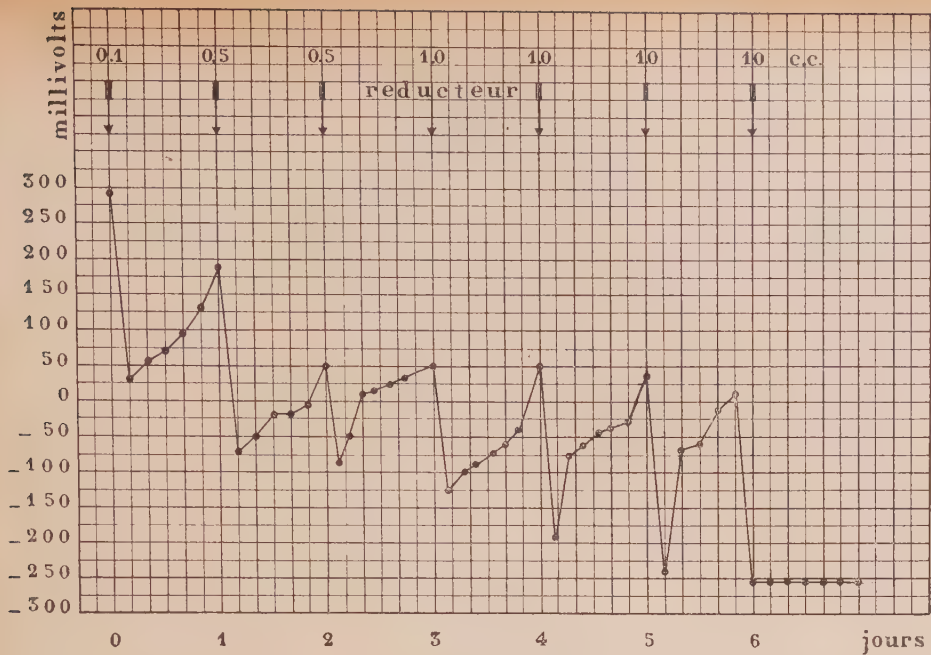
On fait le vide, et on scelle l'appareil. On attend jusqu'à ce que le potentiel de la solution ne varie plus. On ajoute une certaine quantité de réducteur, et on observe la variation de potentiel (sens + → —). Immédiatement, la variation se fait dans le sens inverse (sens — → +) et, en l'espace de 24 heures, l'équilibre est atteint. On ajoute une nouvelle quantité de réducteur ; le phénomène se reproduit ; et on continue de la même manière jusqu'au moment où le potentiel baisse définitivement. On peut considérer qu'à ce moment le système oxydo-réducteur est épuisé. En inscrivant les points d'équilibre finaux, on obtient une courbe en S qui est la même que celle qui est obtenue en faisant le titrage avec un oxydant. Le fait que l'on peut reproduire la courbe caractéristique montre bien la réversibilité du système.

La quantité de réducteur comparée à la quantité d'oxydant employée diffère légèrement. Ainsi on emploie 5 cm³ de solution réductrice, correspondant à $0,85 \times 10^{-4}$ H₂, au lieu d'employer une quantité correspondant à 1×10^{-4} H₂. Il y a donc une différence, en moins, de $0,15 \times 10^{-4}$ H₂, ce qui peut tenir à une légère destruction de la forme oxydée de l'acide glycuronique.

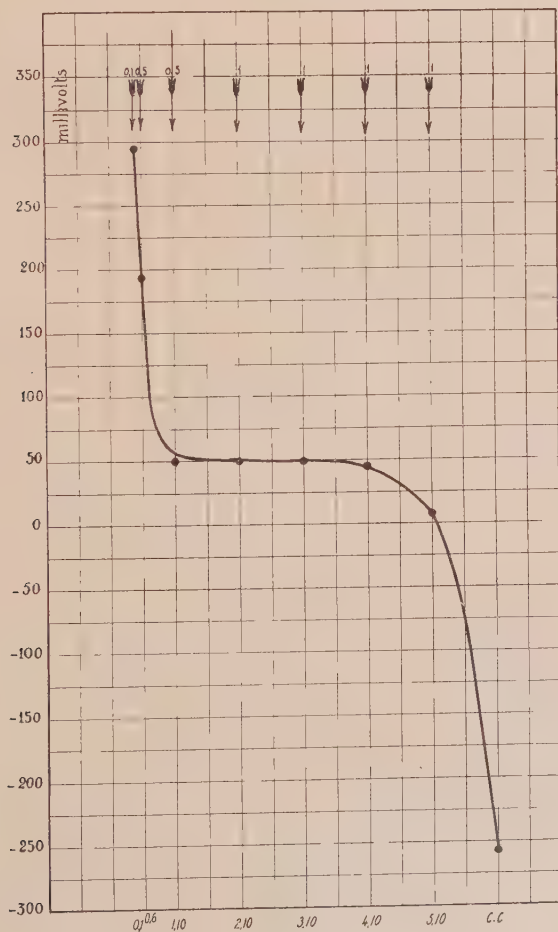
Acide glycuronique : 40 mgr. Oxydation avec o-chlorophéno'-indophénol
Réduction ensuite avec une solution de TiCl₃ dans tampon citraté à pH 6,9.

Date	E _H (en mv)
5-23-2	290
6 » »	290
On ajoute 0,1 réducteur	30, 58, 72, 94, 130, 190
7-23-2	190
On ajoute 0,5 réducteur	— 70, — 50, — 20, — 20, — 10, 50, 50
16 h.	On ajoute 0,5 réducteur — 86, — 50, 10, 15, 25, 32
8-23-2	50
On ajoute 1,0 réducteur	— 124, — 100, — 82, — 70, — 61, — 40
16 h.	50
9-23-2	On ajoute 1,0 réducteur — 190, — 70, — 60, — 32, — 41, — 20
10-23-2	40
On ajoute 1,0 réducteur	— 243, — 70, — 40, 10, 15, 20
11-2-32	20
On ajoute 1 cm ³ réducteur	— 252, — 255, — 257
12-2-32	— 290

pH final 6,8. Quantité totale TiCl₃ = 5,1 cm³



Graphique 9.



Graphique 10.

3. Etude du système oxydo-réducteur des solutions de glucides évoluées. —

Le fait d'avoir obtenu des résultats très analogues à ceux qui avaient été obtenus en travaillant avec des solutions de glucose évoluées, nous a décidé à essayer d'isoler, à partir de ces solutions de glucose évolué, le corps responsable du potentiel d'oxydoréduction.

Dans ce but, nous avons préparé une solution de glucose évolué en faisant une solution de glucose à 5 % dans l'hydroxyde de sodium $n/10$, et en chauffant cette solution, dans des ballons scellés, pendant une heure au bain-marie.

Nous avons traité cette solution exactement de la même manière que s'il s'était agi du jus d'oranges et nous avons obtenu un sirop qui dépose, en formant des cristaux ayant la forme et les propriétés chimiques d'un acide hexuronique.

Nous nous sommes appliqué à faire sur ce matériel des déterminations de potentiel comme nous l'avions fait pour l'acide hexuronique. Les résultats sont les suivants :

Au point de vue électrométrique, les mesures de potentiel montrent l'existence d'un potentiel limite à $-0,070$ volt à $pH\ 7$, soit $rH_2 = 11$.

La courbe de titrage montre l'existence d'un palier dans la région qui correspond à $E_H = -0,030$ volt, soit $rH_2 = 12,6$.

Au point de vue colorimétrique, les résultats sont les mêmes que pour l'acide hexuronique, c'est-à-dire qu'on obtient une réduction des colorants d'un rH_2 supérieur à 14, et qu'on ne peut pas réduire ceux qui ont un rH_2 inférieur à ce chiffre.

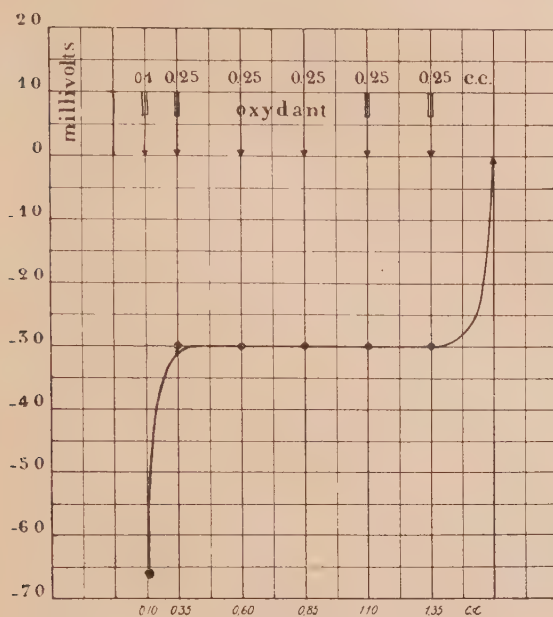
800 cm^3 solution de glucose évolué, traitée de la même manière que le jus d'orange

L'extrait dans tampon phosphaté à $pH = 7$ $\theta = 18^\circ$

Solution oxydante : $Fe(CN)_6K_3$ à 10 ‰

Date	E_H (en mv)
1-10-31	294
2 " "	— 70
3 " "	— 64
4 " "	— 64
5 " "	On ajoute 0,1 oxydant 130
6 " "	— 30
7 " "	On ajoute 0,25 oxydant 170
8 " "	— 30
9 " "	On ajoute 0,25 oxydant 28
10 " "	166
11 " "	— 30
12 " "	On ajoute 0,25 oxydant 20
13 " "	290
14 " "	— 26
15 " "	On ajoute 0,25 oxydant 30
16 " "	440
17 " "	— 30
18 " "	On ajoute 0,25 oxydant 30
19 " "	370
20 " "	350
21 " "	352
22 " "	
23 " "	
24 " "	
25 " "	350

pH final = 7. Quantité totale $Fe(CN)_6K_3 = 1\ cm^3\ 35$



Graphique 11.

CONCLUSIONS

Parmi les dérivés des corps intervenant dans le métabolisme cellulaire, on ne connaissait jusqu'ici comme systèmes oxydo-réducteurs actifs sur l'électrode et ayant un potentiel normal défini, que les systèmes qui prennent naissance au cours de l'évolution à l'abri de l'oxygène des solutions de glucides réducteurs et qui avaient été mis en évidence par WURMSER et GÉLOSO. Mais les travaux de SZENT-GYÖRGYI rendaient probable que l'acide hexuronique extrait de certains tissus et susceptible d'être oxydé réversiblement se comporte d'une manière analogue.

Le grand intérêt que présente, au point de vue physiologique, l'existence de ces systèmes en équilibre à des niveaux de potentiel bien déterminés nous a conduit à entreprendre sur l'acide hexuronique et ses isomères probables, les acides glycuronique et galacturonique une étude identique à celle que WURMSER et GÉLOSO avaient effectuéé sur les solutions de glucides.

Nous avons établi que l'acide hexuronique extrait du jus d'oranges présente un potentiel d'oxydoréduction bien défini. Nous avons mesuré ce potentiel électrométriquement et par colorimétrie et nous avons trouvé un potentiel normal situé dans une région correspondant à $rH_2 = 15 \pm 0,5$.

Nous avons étudié, d'autre part, le potentiel d'oxydoréduction des acides glycuronique et galacturonique et nous avons trouvé que ces acides possèdent aussi un potentiel normal situé dans la même région que celui de l'acide hexuronique.

En faisant le titrage électrométrique avec du ferricyanure de potassium, nous avons mis en évidence une différence de vitesse de réaction au point de vue réduction du ferricyanure. Le rapport de cette vitesse à celle de l'oxydation de l'acide hexuronique est de $1/3$. En faisant « évoluer » dans le vide et dans une solution alcaline l'acide galacturonique, nous avons réussi à modifier la vitesse de l'oxydation qui a été accélérée.

Nous avons extrait des solutions de glucose évoluées à l'abri de l'oxygène un corps qui présente les caractères physiques et chimiques d'un acide hexuronique et qui, au point de vue potentiel normal d'oxydoréduction, présente un palier dans une région qui correspond à $rH_2 = 12,6 \pm 0,5$. Ce résultat concorde parfaitement avec les déterminations de WURMSER et GÉLOSO sur les solutions évoluées de glucose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- WURMSER (R.). — 1923. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. **5**, p. 487.
- WURMSER (R.). — 1925. *C. R. Soc. Biol.*, t. **93**, p. 1478.
- WURMSER (R.). — 1932. *Enzymforschung I*.
- AUBEL (E.), GENEVOIS (L.), et WURMSER (R.). — 1917. *C. R. Ac. Sc.*, t. **184**, p. 407.
- WURMSER (R.) et GÉLOSO (J.). — 1928. *J. Ch. Phys.*, t. **25**, p. 641.
- WURMSER (R.) et GÉLOSO (J.). — 1929. *J. Ch. Phys.*, t. **26**, p. 424 et 447.
- WURMSER (R.) et GÉLOSO (J.). — 1931. *J. Ch. Phys.*, t. **38**, p. 260.
- SZENT-GYÖRGYI (A.). — 1928. *The biochem. J.*, **22**, 1387.
- WURMSER (R.). — 1930. *Oxydations et réductions*. Presses Universitaires.
- MAYER (N.). — 1929. *J. Ch. Phys.*, t. **26**, p. 565.
- WURMSER (R.) et MAYER (N.). — 1932. *C. R. Ac. Sc.*, t. **184**, p. 888.
- COURTINES et GÉLOSO (J.). — 1930. *J. Ch. Phys.*, t. **27**, p. 54.
- BIGWOOD (E. J.). — 1928. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. **10**, p. 15.
- MANSFIELD CLARK (W.). — 1928. *Studies on Oxidation-reduction. United States Public Health Service*. Washington.
- RAPKINE (L.), STRUYK (A.), et WURMSER (R.). — 1929. *J. Chim. Phys.*, t. **26**, p. 340.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
--------------------	---

CHAPITRE PREMIER

LES POTENTIELS D'OXYDORÉDUCTION DES DÉRIVÉS DES GLUCIDES

1. Potentiel d'oxydoréduction d'un système.....	3
2. Potentiel des solutions de glucides réducteurs évolués.....	4
3. Interprétation des courbes de titrage	5

CHAPITRE II

LES ACIDES HEXURONIQUES

1. Un facteur réducteur des tissus.....	7
2. Les acides glycuronique et galacturonique.....	8

CHAPITRE III

TECHNIQUE

1. Dispositif du titrage électrométrique.....	10
2. Marche d'un titrage.....	12
3. Détermination du pH.....	13
4. Mesures colorimétriques.....	14

CHAPITRE IV

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1. Etude de l'acide hexuronique.....	15
2. Etude des acides glycuronique et galacturonique.	20
3. Etude du système oxydo-réducteur des solutions de glucides évoluées	28
CONCLUSIONS	30
BIBLIOGRAPHIE	31

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

THÉORIE DE LA β -OXYDATION

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 23 Avril 1932.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

Imprimerie des PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE, Paris-Saint-Amand. — 29-4-1932.
